

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19926

研究課題名(和文) 血液一滴による脳の機能状態モニタリング

研究課題名(英文) Monitoring of brain function using a single blood drop

研究代表者

小寺 義男 (Kodera, Yoshio)

北里大学・理学部・教授

研究者番号：60265733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：マウス全脳抽出物と髄液のプロテオーム解析を行い、約1500種類のタンパク質が両試料に共通して含まれていることを確認した。このうち266種類のタンパク質がヒト血漿ペプチドーム解析で検出されたペプチドの前駆体タンパク質と一致した。また、ピロカルピン投与によって不安感亢進したマウスと健康マウスの髄液中のタンパク質をLC-MSを用いた高感度定量解析法(DIA法)で詳細に比較分析した結果、てんかんの関与が報告されている複数のタンパク質が2倍近く変動していた。さらに、セクレトグラニン1,2、クロモグラニンAなど脳特異的に発現しており、かつ、血漿ペプチドーム解析で検出されたタンパク質も含まれていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血液は森の中を流れる小川のごとく体内で起こっている各種イベントの情報を含んでいる。さらに、体の内外からの変動に対応するための組織間ネットワークの媒体として働いている。本研究プロジェクトではこの血液分析の可能性を広げることを目的に、脳組織ならびに髄液中のタンパク質と血液タンパク質・ペプチドの両方の分析を行った。その結果、脳組織ならびに髄液に存在し、かつ、不安感亢進マウス特異的に変動するタンパク質を含む250種類を超えるタンパク質が血中で検出された。

研究成果の概要(英文)：Human plasma is by far the most commonly sampled diagnostic biospecimen and potentially informative resource of extreme importance for characterizing proteomes. However, the existence of high-abundance proteins and fragmentation make precise analysis of proteins challenging. We developed an improved strategy to extract and analyze plasma low-molecular-weight peptides, containing many peptides bound to carrier proteins such as albumin and identified more than 10,000 peptides uniquely assigned to 1,388 precursor proteins. In this study, we analyzed proteins in mouse whole brain lysate and spinal fluid using high-sensitivity proteome approach. The results showed that more than 250 proteins observed in brain and spinal fluid were consistent with proteins in 1,388 precursor proteins detected in plasma peptidome analysis.

研究分野：プロテオミクス

キーワード：プロテオミクス ペプチドミクス 脳 髄液 血液

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

質量分析技術の発達により、数 mg の組織や臓器、 10^5 個程度の細胞中のタンパク質を酵素消化して約 1 時間の LC-MS 分析をおこなうことにより、2000 種類を超えるタンパク質の同定が可能となってきた。しかし、血清・血漿においては同様の方法でも 200 種類程度のタンパク質しか同定できず、我々の求める組織や臓器由来のタンパク質を分析することは非常に困難である。その理由は、組織や細胞の情報が数リットルの血液に薄められていること、さらに、アルブミンや IgG などの一部の極端に高濃度なタンパク質(約 1mM~0.1mM)がその他の情報の取得を邪魔していることに起因している。このため、多くの研究者が取り掛かるも大きな成果を出すことなく撤退し、血清・血漿のタンパク質分析に正面から対峙しているグループは非常に少ない。

こうした中、研究代表者は血清・血漿中の native ペプチドをアルブミン等のキャリアタンパク質に結合したペプチドをも高効率に抽出できるペプチド抽出法の開発に成功し、血漿 0.2 mL から血漿中の濃度数 pM のペプチドホルモンの直接検出に成功した。

2. 研究の目的

ストレス関連障害のモデルマウスならびに冷水浸水ストレス負荷マウスの脳組織ならびにマイクロダイアリシスで採取される脳内分泌液を詳細に分析し、脳の機能状態に相関して変動する血液中のタンパク質を分析する。また、微量の脳組織から native ペプチド (ペプチド) を高効率に抽出する技術に安定同位体標識法を組み合わせることで微量脳組織を対象とした比較分析法を確立する。これをとおして脳の機能状態を血液の変化として検出するための可能性を見出す。

3. 研究の方法

(1) 脳髄液の試料調製

ムスカリン性アセチルコリン受容体アンタゴニスト (ピロカルピン) 投与によって不安感を亢進したマウスならびにそのコントロールマウスの脳髄液を採取した。1 個体あたりの髄液は非常に微量で 5 μ L 前後であるため、まずは、不安感亢進マウス 5 匹とコントロールマウス 3 匹の混合髄液 45 μ L を用いて高感度定量分析法 (DIA 法) のためのライブラリ構築を目的とした網羅的同定解析 (DDA 解析) を行った。その後、このライブラリを用いてコントロールマウス、不安感亢進マウス各 3 匹の脳髄液を対象に高感度比較定量解析を行った。

髄液はタンパク濃度が薄いことに加えて、試料中のタンパク質の変性を防ぐため、採取後冷凍保存した髄液を解凍することなく凍結乾燥を行った。凍結乾燥物に、相関移動溶解剤 (PTS, Phase Transfer Surfactant 試薬) を 20 μ L 加えて密閉型超音波破砕機 (Bioruptor UCW-310, コスモバイオ, 日本, 東京) 4°C で 30 分間攪拌し、タンパク質を抽出した。その後、還元アルキル化処理後にリシルエンドペプチダーゼとトリプシンを各 200 ng 添加して 18 時間以上 37°C でインキュベートした。

(2) ペプチドダイアリシスで採取した脳内分泌液の試料調製

ペプチドダイアリシスによる脳内分泌液の採取はウシ血清アルブミン溶液を送り込むみ、全 20~25 分画 (各約 25 μ L) を採取した。その後、4 分画ごとに混合し、TCA を加えてタンパク質成分を沈殿させて、その後、PTS 溶液で溶解し、(1) の脳髄液同様の方法でリシルエンドペプチダーゼとトリプシンを用いて酵素消化した。

(3) 血漿のペプチドーム解析

ペプチドの損失を極力抑え、かつ、タンパク質に結合したペプチドをも抽出することのできる独自に開発した高効率ペプチド抽出法 (DS 法: Differential Solubilization 法, J Proteome Res. 9:1694-1705, 2010, J Electrophoresis, 57, 1-7, 2013,) を用いて行った。

(4) 脳組織のプロテオーム解析

ピロカルピン投与マウスならびにそのコントロールマウスは髄液を採取後に全脳を摘出し凍結し、その凍結切片 1 枚から大脳皮質の試料を採取した。髄液は(1)の実験で使用した。また、別個体の全脳を摘出後にホモジナイズし、脳中タンパク質の詳細分析ならびに各種 LC-MS 分析法確立と比較分析精度の確認のために使用した。PTS 試薬を用いたタンパク質の抽出ならびにトリプシン消化は(1)に記載の方法で行った。

(5) 脳組織のペプチドーム解析

マウス全脳は摘出後にすぐに熱湯を用いて煮沸してプロテアーゼを失活させ、その後、液体窒素にて凍結した。凍結試料を解凍することなく凍結乾燥し、その後、凍結破砕機 (フリーズクラッシャー μ T-48, 和研薬株式会社) を用いて粉末化し、その後、(3)に記載のペプチド抽出法を改良した組織用ペプチド抽出法でペプチド抽出した。海馬ならびに線条体は、脳採取後に液体窒素にて瞬間冷却し、その後、凍結切片を切り出した。個体間の比較分析を行うため、ほぼ同じ部位を秤量済みのプロテアーゼインヒビターを入れたペプチド抽出液 (4°C) に落とし、再度秤量し、微量凍結切片の正確な組織量を把握した。ペプチド抽出は上記の全脳と同様に改良型のペプチド抽出法を用いた。

(6) 質量分析のための前処理と質量分析

LC-MS 測定には、超低流速用 LC (nanoLC, Easy nLC 1000, Thermo fisher scientific) と四重極フーリエ変換型ハイブリッド質量分析計 Q-Exactive (Thermo fisher scientific) を組み合わせて使用した。nanoLC の分析カラムとして、Nano HPLC capillary Column, C18 0.075×125 mm analytical column (日京テクノス, 東京, 日本) を使用した。移動相の溶媒は A 溶媒として 0.1% FA / 99% H₂O, B 溶媒として 90% ACN, 0.1% FA, 9.9% H₂O を使用した。移動相の流速は 300 nL / min とした。なお、LC-MS 分析試料の脱塩処理には ピペットチップの先端に C18 単体を充てんした Stage Tip を用いて行った。

4. 研究成果

(1) マイクロダイアリスで得られた脳内分泌液中のタンパク質の分析

マイクロダイアリスで採取した 24 分画を 4 分画ずつ混合し、酵素消化後に LC-MS 分析した。この実験を 2 回行い、同定解析した結果、トータル 130 種類のタンパク質に由来する酵素消化ペプチドを検出した。しかし、ウシ血清アルブミンを脳に注入して脳内分泌液を回収しているため脳内分泌液中に多くの血清アルブミン由来のペプチドが混入し、微量成分の分析が困難であった。そこで、押し出す溶液をリン酸緩衝液にした。その結果、血清アルブミン由来のタンパク質はいくらか減少したが、脳内分泌液のタンパク濃度は非常に薄く、微量成分を含む十分な分析が困難であったこと、さらに、脳内分泌液の採取場所、深さによって成分が安定しなかった。そこで、マイクロダイアリスに代えて当初予定に含めていなかった髄液について、安定な採取法を検討し、脳組織との相関を調べることにした。

(2) マウス全脳、髄液のタンパク質分析結果

マウス全脳の抽出物をトリプシン消化後に 8 分画して LC-MS 分析した結果、約 6400 種類 (Gene Name 数) のタンパク質の同定に成功した。また、同様にマウスの髄液の混合試料約 40 μ L を酵素消化後に 8 分画して LC-MS 分析した結果、非常に高感度な分析に成功し、約 2170 タンパク質の同定に成功した。これらのタンパク成分を全脳で検出されたタンパク質と比較した結果、約 2170 種類の中の約 1500 種類が全脳ならびに髄液で検出されたタンパク質であった。さらに、髄液中で検出されたタンパク質について、DAVID Bioinformatics Resources (<https://david.ncifcrf.gov/>) を用いて Uniprot の Keyword 検索を行った結果、440 タンパク質が "Secreted"、16 種類が "Hormone" に関係したタンパク質であった。また、"Kinase" が 68 種類、"Neuro" が 51 種類、"Synaps" が 44 種類であった。この結果をヒト血漿ペプチドーム解析で同定された約 1350 種類のタンパク質と比較した結果、髄液で同定した約 2170 タンパク質の中の 266 種類が全脳ならびに血漿中で検出されていることがわかった。この中には、Alpha-synuclein, Secretogranin-1, 2, chromogranin A などの脳特異的に発現している可能性の高いタンパク質を含む約 160 種類の分泌性のタンパク質を含んでいた。

(3) ピロカルピン投与による不安感亢進モデルマウス特異的に変動する髄液中のタンパク質の探索

不安感亢進モデルマウス 3 匹 (EP1-EP3) とコントロールマウス 3 匹 (C1-C3) の髄液中のタンパク質を高感度比較分析法 DIA (Data independent analysis) を用いて分析した。その結果、1,041

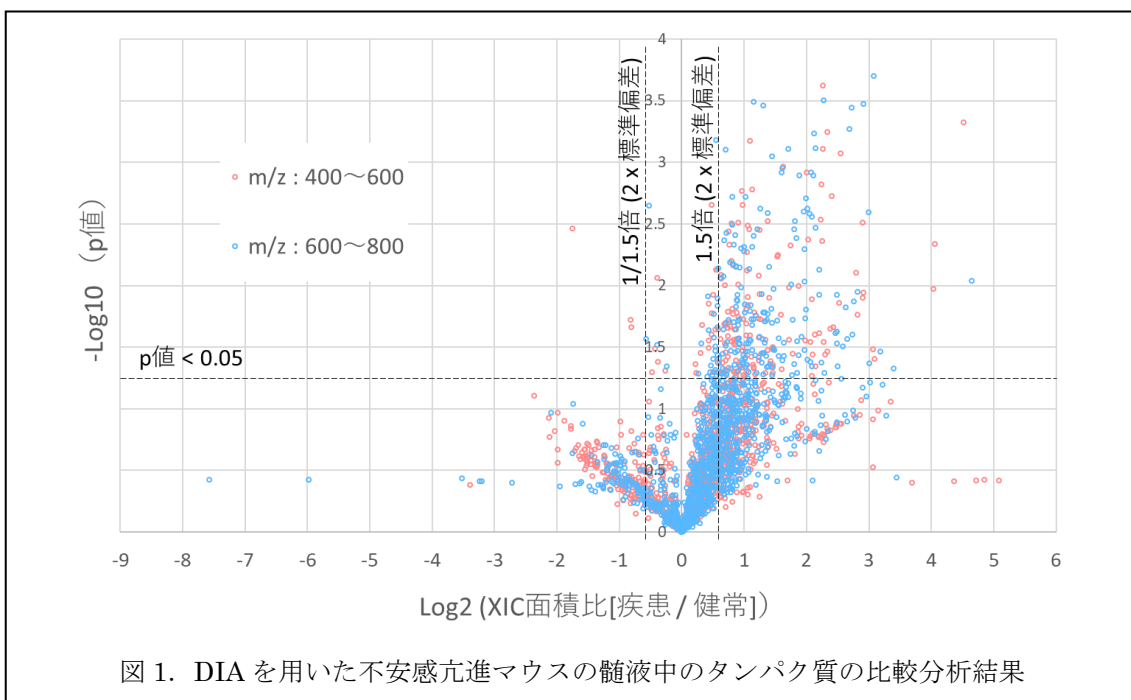


図 1. DIA を用いた不安感亢進マウスの髄液中のタンパク質の比較分析結果

タンパク質に由来する 3716 種類の酵素消化ペプチドについて高精度に比較することに成功した。比較解析の結果を volcano plot として図 1 に示す。縦軸は健常 (C1-C3) と疾患 (EP1-EP3) の p 値の $-\log_{10}$ 、横軸は、各ペプチドの信号強度比 (疾患/健常) の \log_2 を計算した値である。グラフから、減少傾向のペプチドと比較して増加傾向を示すペプチドが多い結果となり、てんかん誘発に伴う神経活動により多くのタンパク質の分泌が起こったと考えられる。また、338 種類のペプチドが有意 (p 値 < 0.05) に変動しており、それらは 159 種類のタンパク質に由来していた。このうち、300 種類のペプチドが標準偏差の 2 倍となる 1.5 倍または $1/1.5$ 倍よりも大きく変動していた。これらの中には、てんかんに関与している報告がある Reelin や Neuropeptide Y が 2 倍近く変動していた。さらに、Secretogranin-1, Secretogranin-2, Chromogranin-A など脳特異的に発現しており、かつ、血漿ペプチドーム解析で検出されたタンパク質も含まれていた。

(4) 微量脳組織 (全脳、線条体、海馬) を対象とした native ペプチド (ペプチド) の解析

従来の生理活性ペプチドの探索では、豚などの大動物の組織を対象にペプチドを抽出して分析していた。しかし、この方法では、マウスを対象とした個体間の比較分析は不可能であり、疾患等に伴って変動するペプチド成分を新たに見出すことは困難であった。そこで、本研究では、凍結切片数 mg を解凍することなく秤量し、方法 (3) に記載の血漿を対象とした高効率ペプチド抽出法を組織用に改良したペプチド抽出法を確立した。その方法を全脳、線条体、海馬のペプチド分析を行った結果、495 種類のタンパク質に由来する 2000 種類を超えるペプチドの同定に成功した。その中には Neurokinin A, Substance P, Somatostatin-28, Neuropeptide Y, Galanin などの既知の生理活性ペプチドが含まれていた。また、ヒト血漿ペプチド分析の結果得られた脳特異的に発現している可能性の高い Protein Piccolo, Neurogranin, Alpha-synuclein, Chromogranin-A, Secretogranin-1, -2, Protein bassoon, Secretogranin-1, Synapsin-1 の断片ペプチドも検出されていた。さらに、海馬を対象にペプチド抽出法と安定同位体標識法 (ジメチル標識法) を

組み合わせた高精度比較分析法を確立し、拘束浸水ストレス負荷に伴うペプチドの変動を比較分析した (図 2)。その結果、Excitatory amino acid transporter 2, Secretogranin-1, Synaptosomal-associated protein 25, Chromogranin-A, Thymosin beta-4, に由来するペプチドにおいて有意な変動が確認できた。Secretogranin-1, Chromogranin-A, Thymosin beta-4 の部分ペプチドは、部位は異なるがヒト血漿中のペプチド分析においても検出されている。これらの結果は、ストレスに伴う脳内の変動を血液をとおして検出出来る可能性を示唆している。

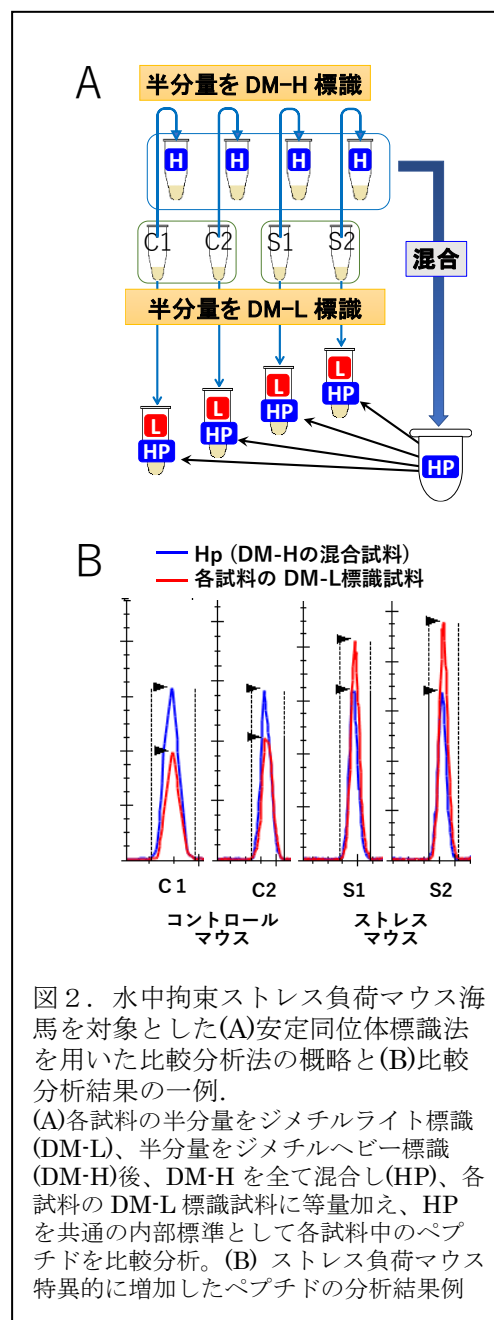


図 2. 水中拘束ストレス負荷マウス海馬を対象とした(A)安定同位体標識法を用いた比較分析法の概略と(B)比較分析結果の一例。(A)各試料の半分量をジメチルライト標識 (DM-L)、半分量をジメチルヘビー標識 (DM-H)後、DM-H を全て混合し(HP)、各試料の DM-L 標識試料に等量加え、HP を共通の内部標準として各試料中のペプチドを比較分析。(B) ストレス負荷マウス特異的に増加したペプチドの分析結果例

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Salzmann Manuel, Bleichert Sonja, Moser Bernhard, Mussbacher Marion, Haase Mildred, Hoesel Bastian, Schrottmaier Waltraud C., Kral-Pointner Julia B., Itakura Makoto, Schmidt Katy, Assinger Alice, Schmid Johannes A.	4. 巻 4
2. 論文標題 I B kinase 2 is not essential for platelet activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 638 ~ 643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2019001044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Eguchi Kohgaku, Velicky Philipp, Hollergschwandtner Elena, Itakura Makoto, Fukazawa Yugo, Danzl Johann Georg, Shigemoto Ryuichi	4. 巻 14
2. 論文標題 Advantages of Acute Brain Slices Prepared at Physiological Temperature in the Characterization of Synaptic Functions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2020.00063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukaya Masahiro, Sugawara Takeyuki, Hara Yoshinobu, Itakura Makoto, Watanabe Masahiko, Sakagami Hiroyuki	4. 巻 40
2. 論文標題 BRAG2a Mediates mGluR-Dependent AMPA Receptor Internalization at Excitatory Postsynapses through the Interaction with PSD-95 and Endophilin 3	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4277 ~ 4296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1645-19.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takano Shotaro, Uchida Kentaro, Itakura Makoto, Iwase Dai, Aikawa Jun, Inoue Gen, Mukai Manabu, Miyagi Masayuki, Murata Kosuke, Sekiguchi Hiroyuki, Takaso Masashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Transforming growth factor- stimulates nerve growth factor production in osteoarthritic synovium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-019-2595-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tabata Shigekazu, Jevtic Marijo, Kurashige Nobutaka, Fuchida Hirokazu, Kido Munetsugu, Tani Kazushi, Zenmyo Naoki, Uchinomiya Shohei, Harada Harumi, Itakura Makoto, Hamachi Itaru, Shigemoto Ryuichi, Ojida Akio	4. 巻 22
2. 論文標題 Electron Microscopic Detection of Single Membrane Proteins by a Specific Chemical Labeling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 256 ~ 268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.11.025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saegusa Shintaro, Fukaya Masahiro, Kakegawa Wataru, Tanaka Manabu, Katsumata Osamu, Sugawara Takeyuki, Hara Yoshinobu, Itakura Makoto, Okubo Tadashi, Sato Toshiya, Yuzaki Michisuke, Sakagami Hiroyuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Mice lacking EFA6C/Psd2, a guanine nucleotide exchange factor for Arf6, exhibit lower Purkinje cell synaptic density but normal cerebellar motor functions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0216960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0216960	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takano Shotaro, Uchida Kentaro, Shoji Shintaro, Itakura Makoto, Iwase Dai, Aikawa Jun, Mukai Manabu, Sekiguchi Hiroyuki, Inoue Gen, Takaso Masashi	4. 巻 2019
2. 論文標題 Vascular Endothelial Growth Factor Is Regulated by the Canonical and Noncanonical Transforming Growth Factor- Pathway in Synovial Fibroblasts Derived from Osteoarthritis Patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioMed Research International	6. 最初と最後の頁 1 ~ 6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/6959056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aoyagi Kyota, Itakura Makoto, Fukutomi Toshiyuki, Nishiwaki Chiyono, Nakamichi Yoko, Torii Seiji, Makiyama Tomohiko, Harada Akihiro, Ohara-Imaizumi Mica	4. 巻 159
2. 論文標題 VAMP7 Regulates Autophagosome Formation by Supporting Atg9a Functions in Pancreatic -Cells From Male Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 3674 ~ 3688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2018-00447	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakurai Chiye, Itakura Makoto, Kinoshita Daiki, Arai Seisuke, Hashimoto Hitoshi, Wada Ikuo, Hatsuzawa Kiyotaka	4. 巻 29
2. 論文標題 Phosphorylation of SNAP-23 at Ser95 causes a structural alteration and negatively regulates Fc receptor-mediated phagosome formation and maturation in macrophages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 1753 ~ 1762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1091/mbc.E17-08-0523	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rubio Mar?a E., Matsui Ko, Fukazawa Yugo, Kamasawa Naomi, Harada Harumi, Itakura Makoto, Moln?r Elek, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Shigemoto Ryuichi	4. 巻 222
2. 論文標題 The number and distribution of AMPA receptor channels containing fast kinetic GluA3 and GluA4 subunits at auditory nerve synapses depend on the target cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 3375 ~ 3393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00429-017-1408-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchiyama Yosuke, Watanabe Ryo, Kurotaki Takanori, Kuniya Suguru, Kimura Shinobu, Sawamura Yukihiko, Ohtsuki Takemaru, Kikuchi Yuichi, Matsuzawa Hideyo, Uchiyama Koji, Itakura Makoto, Kawakami Fumitaka, Maruyama Hiroko	4. 巻 2
2. 論文標題 Maintaining of the Green Fluorescence Emission of 9-Aminoanthracene for Bioimaging Applications	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 3371 ~ 3379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.7b00711	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Kentaro, Takano Shotaro, Matsumoto Toshihide, Nagura Naoshige, Inoue Gen, Itakura Makoto, Miyagi Masayuki, Aikawa Jun, Iwase Dai, Minatani Atsushi, Fujimaki Hisako, Takaso Masashi	4. 巻 18
2. 論文標題 Transforming growth factor activating kinase 1 regulates extracellular matrix degrading enzymes and pain-related molecule expression following tumor necrosis factor- stimulation of synovial cells: an in vitro study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-017-1648-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Momozono Akari, Kodera Yoshio, Sasaki Sayaka, Nakagawa Yuzuru, Konno Ryo, Shichiri Masayoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Oxidised Met147 of human serum albumin is a biomarker of oxidative stress, reflecting glycaemic fluctuations and hypoglycaemia in diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-57095-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tochimoto Masataka, Oguri Yasuko, Hashimura Miki, Konno Ryo, Matsumoto Toshihide, Yokoi Ako, Kodera Yoshio, Saegusa Makoto	4. 巻 100
2. 論文標題 S100A4/non-muscle myosin II signaling regulates epithelial-mesenchymal transition and stemness in uterine carcinosarcoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 682 ~ 695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0359-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshino Sonomi, Fujimoto Kazumi, Takada Tesshu, Kawamura Sayuki, Ogawa Junro, Kamata Yuji, Kodera Yoshio, Shichiri Masayoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Molecular form and concentration of serum 2-macroglobulin in diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49144-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hoshiyama Ayako, Fujimoto Kazumi, Konno Ryo, Sasaki Sayaka, Momozono Akari, Kodera Yoshio, Shichiri Masayoshi	4. 巻 66
2. 論文標題 Identification of plasma binding proteins for glucose-dependent insulinotropic polypeptide	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 621 ~ 628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ18-0472	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 SOGAWA KAZUYUKI, KOBAYASHI MIKA, SUZUKI JUN, SANDA AKIHIRO, KODERA YOSHIO, FUKUYAMA MASAFUMI	4. 巻 23
2. 論文標題 Inhibitory Activity of Hydroxytyrosol against Streptolysin O-Induced Hemolysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biocontrol Science	6. 最初と最後の頁 77 ~ 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4265/bio.23.77	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sogawa Kazuyuki, Takahashi Yuria, Shibata Yui, Satoh Mamoru, Kodera Yoshio, Nomura Fumio, Tanaka Toshio, Sato Hironori, Yamaide Fumiya, Nakano Taiji, Iwahashi Kazuhiko, Sugita-Konishi Yoshiko, Shimada Akinori, Shimojo Naoki	4. 巻 176
2. 論文標題 Search for a Novel Allergen in Hen 's Egg Allergy Using an IgE Immunoblotting Assay	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Archives of Allergy and Immunology	6. 最初と最後の頁 189 ~ 197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000488144	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toki Takuya, Kodera Yoshio, Konno Ryo, Hirata Yoshiya, Saito Tatsuya, Shichiri Masayoshi	4. 巻 63
2. 論文標題 A novel strategy to identify autoantigens by proteomic analysis of plasma IgG-bound proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Electrophoresis	6. 最初と最後の頁 15 ~ 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.2198/jelectroph.63.15	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchida Sachio, Satoh Mamoru, Umemura Hiroshi, Sogawa Kazuyuki, Takiwaki Masaki, Ishige Takayuki, Miyabayashi Yui, Iwasawa Yuuya, Kobayashi Sohei, Beppu Minako, Nishimura Motoi, Kodera Yoshio, Matsushita Kazuyuki, Nomura Fumio	4. 巻 12
2. 論文標題 Assessment by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry of the Effects of Preanalytical Variables on Serum Peptidome Profiles Following Long-Term Sample Storage	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PROTEOMICS - Clinical Applications	6. 最初と最後の頁 1700047 ~ 1700047
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prca.201700047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuru Michiyo, Sata Michio, Tanaka Maki, Umeyama Hideaki, Kodera Yoshio, Shiwa Mieko, Aoyagi Norikazu, Yasuda Kaori, Matsuoka Kei, Fukuda Takaaki, Yamana Hideaki, Nagata Kensei	4. 巻 10
2. 論文標題 Retrospective Proteomic Analysis of a Novel, Cancer Metastasis-Promoting RGD-Containing Peptide	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Translational Oncology	6. 最初と最後の頁 998 ~ 1007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tranon.2017.10.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiya Masashi, Yamazaki Masaaki, Matsumoto Toshihide, Kawashima Yusuke, Oguri Yasuko, Kajita Sabine, Kijima Daiki, Chiba Risako, Yokoi Aiko, Takahashi Hiroyuki, Kodera Yoshio, Saegusa Makoto	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of LEFTY as a molecular marker for ovarian clear cell carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 63646 ~ 63664
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.18882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Kazumi, Hayashi Akinori, Kodera Yoshio, Saito Tatsuya, Toki Takuya, Ogawa Akifumi, Kamata Yuji, Takano Koji, Katakami Hideki, Shichiri Masayoshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Identification and quantification of plasma free salusin- , an endogenous parasympathomimetic peptide	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-08288-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 小寺 義男, 藤本 和美, 中川 譲, 斎藤 達也, 川島 祐介, 七里 真義
2. 発表標題 血漿ペプチドミクスによる新規生理活性ペプチドの探索
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角田 貴樹, 紺野 亮, 板倉 誠, 松井 崇, 小寺 義男
2. 発表標題 脳の機能状態モニタリングを目指した脳脊髄液の詳細な比較分析への取り組み
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土屋 紅緒, 柳田 憲吾, 紺野 亮, 小寺 義男, 佐藤 雄一
2. 発表標題 肺腺癌における上皮-間葉移行を標的とした血清診断マーカーの獲得
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川 謙, 山田 拓也, 佐藤 雅, 松井 崇, 板倉 誠, 岩淵 和也, 小寺 義男
2. 発表標題 マウスの小腸・大腸を対象としたペプチドーム解析の基礎的検討
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 大晃, 紺野 亮, 福井 朋也, 松井 崇, 長塩 亮, 佐藤 雄一, 小寺 義男
2. 発表標題 安定同位体標識法とGeLC-MS/MS法を組み合わせたタンパク質存在様式の比較分析法の確立と応用
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 紺野 亮, 伊藤 大晃, 樋口 雅崇, 松井 崇, 佐藤 俊哉, 板倉 誠, 小寺 義男
2. 発表標題 水中拘束ストレスマウスの大脳皮質を対象とした包括的なタンパク質存在様式の比較分析
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小寺義男
2. 発表標題 Native peptide研究の現状と課題
3. 学会等名 質量分析インフォマティクス研究会・第3回ワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小寺義男
2. 発表標題 血液一滴の可能性を拓きたい - 独自の技術を基盤にした血漿プロテオミクス・ペプチドミクス -
3. 学会等名 第45回BMS(Biomolecular Mass Spectrometry) コンファレンス(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小寺義男
2. 発表標題 組織ならびに血液中のタンパク質・ペプチドの存在様式解析技術の開発と応用
3. 学会等名 日本分析化学会67年会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R.Konno, K.Hiramatsu, H.Ito, M.Itakura, Y.Kodera
2. 発表標題 Establishment and application of comparative analysis protein abundance and functional status.
3. 学会等名 MPS2018(9th AOHUP) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y.Nakagawa, T.Yamada, T.Tunoda, K.Fujimoto, M.Itakura, Y.Kodera
2. 発表標題 Establishment of method for peptidome analysis from a small amount of tissue
3. 学会等名 MPS2018(9th AOHUP) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小寺義男, 白水崇, 鷹野宏美, 紺野亮, 中川謙, 七里眞義, 朝長毅
2. 発表標題 血清・血漿検体の品質評価マーカーの開発
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2017年大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小寺義男
2. 発表標題 様々なプロテオミクス技術を用いた血液中の疾患関連タンパク質・ペプチドの探索
3. 学会等名 第57回日本臨床化学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小寺義男
2. 発表標題 血清・血漿の Native Peptide 分析
3. 学会等名 第68回日本電気泳動学会総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kodera Y, Suzuki S, Saito T, Fujimoto K, Momozono A, Konno R, Nakagawa Y, Hayashi A, Kamata Y, Shichiri M
2. 発表標題 Oxidized methionine levels in serum proteins as potential clinical biomarkers to assess oxidative stress status
3. 学会等名 16th Human Proteome Organisation World Congress（（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 ペプチド及びその使用	発明者 小寺義男, 七里眞義	権利者 学校法人北里研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-057321	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 体液中のタンパク質を分析するための効率的な前処理技術、及び、前処理キット	発明者 小寺義男, 七里眞義	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-20424	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 生物学的検体の品質評価方法およびそのためのマーカー	発明者 朝長毅, 白水崇, 小寺義男, 七里眞義, 湯地晃一郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-135808	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	板倉 誠 (Itakura Makoto) (30398581)	北里大学・医学部・准教授 (32607)	